

VERÄNDERUNG DES GLYKOGENGESHALTES
DER NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN
UNTER DEM EINFLUSS VON ENDOXAN, SUPRONAL UND PYREXAL

von

NUSCHAFARIN MOSTOFISADEH

1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Medizinischen Klinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. Duesberg +

VERÄNDERUNG DES GLYKOGENGEHALTES
DER NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN
UNTER DEM EINFLUSS VON ENDOXAN, SUPRONAL UND PYREXAL

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

NUSCHAFARIN MOSTOFISADEH

aus Maschad/Iran

MAINZ 1968

Dekan: Prof. Dr. Dr. Thews
Referent: Prof. Dr. Friederici
Korreferent: Prof. Dr. Duesberg +
Tag der mündlichen Prüfung: 11. Mai 1968



Gesamtherstellung: Ditters Bürodienst Mainz

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einführung	1
2. Material und Methodik	3
1. Färbung	3
2. Versuchsdurchführung	5
3. Verwendete statistische Methoden	7
4. Ergebnisse	8
5. Diskussion	11
6. Zusammenfassung	17
7. Literatur	18

EINFÜHRUNG

Die Bedeutung der Leukozyten als Träger wichtiger Funktion bei der Infektabwehr ist seit den Untersuchungen COHNHEIM's und METSCHNIKOFF's bekannt.

Während diese Autoren das morphologische Substrat des leukozytären Abwehrmechanismus primär in der aktiven Beweglichkeit (COHNHEIM 1869) und den phagozytären Eigenschaften (METSCHNIKOFF 1892) der weißen Blutzellen sahen, traten - angeregt durch die Seitenkettentheorie der Immunisierungsprozesse P. EHRLICH's - Probleme des Stoffwechsels dieser Zellen immer mehr in den Vordergrund. Die Untersuchungen von P. EHRLICH (1883), der in pneumonischen Herden der Lunge sogenannte "Glykogenkugeln" beschreibt, die er für Leukozyten in degenerativen oder reaktiven Stoffwechselsituationen hält, gaben Anstoß, mit histochemischen Methoden den Stoffwechselleistungen der Leukozyten nachzugehen.

Einen wesentlichen Schritt in dieser Richtung bedeutete die Beobachtung von P. EHRLICH und A. LAZARUS (1898), sie fanden, daß die Neutrophilen im peripheren Blut gesunder Organismen bei der damals zum Glykogennachweis benutzten Laevulose Jod-Reaktion sich nur außerordentlich schwach tingierten, während die gleichen Zellen im purulenten Exsudat sowie im gonorrhöischen Eiter stets jodophil reagieren. Dieses Phänomen war Anlaß, nach Wegen zu suchen, eine Störung im Zellstoffwechsel histologisch erfassen und die Pathomorphologie eines Teils des Immunsystems durch die Pathophysiologie seiner Stoffwechselreaktionen ergänzen zu können.

Neuere Untersucher haben durch Einführung differenzierter histochemischer Reaktionen in die Hämatologie (R. D. HOTSCHKISS 1948, F. HECKNER 1956) Änderungen im Kohlenhydratstoffwechsel der Blutzellen bei den unterschiedlichsten pathologischen Prozessen nachweisen können. Die Schwerpunkte dieser Arbeiten lagen in der Klärung des Verhaltens der weißen Blutzellen beim Diabetes mellitus, bei den Leukosen und den Immunreaktionen im Rahmen zellulärer Infektabwehr.

Dabei scheint die P. A. S. -Reaktion nach R. D. HOTSCHKISS (1948) der exakteste histochemische Glykogennachweis zu sein, der besonders wegen der Möglichkeit einer semiquantitativen Aussage in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen hat (G. MÄHR 1959). Darüber hinaus gelang es V. ESMANN (1961) mikroanalytisch den Gehalt einzelner Leukozyten an Glykogen quantitativ zu bestimmen.

Polysaccharide sind histochemisch in allen Neurophilen, Eosinophilen, Thrombozyten und einem gewissen inkonstanten Prozentsatz von Basophilen, Lymphozyten und Monozyten nachweisbar. Die Erythrozyten zeigen negative histochemische Reaktionen. In den meisten Blutzellarten befindet sich als Polysaccharid ausschließlich Glykogen, nur die Eosinophilen und Megakaryozyten enthalten daneben eine andere, noch unbekannte Polysaccharidkomponente. Bei den Basophilen bestehen die Granula aus Schwefelestern der Polysaccharide (E. STORTI, S. PERUGINI e M. SOLDATI 1953). Übereinstimmend mit ASTALDI (1952) konnte FRIEDERICI (1955) mit der HOTCHKISS-Färbung eine positive Reaktion des Zytoplasmas der Megakaryozyten und der Lymphozytengranula nachweisen. Nach Untersuchungen von G. ASTALDI (1952), die von L. FRIEDERICI (1955) voll bestätigt werden konnten, nimmt der Glykogengehalt der Zellen der neutrophilen Granulozytenreihe entsprechend ihrem Differenzierungsgrad zu. Die gleichen Befunde konnte L. FRIEDERICI (1955) darüber hinaus bei Zellen der eosinophilen Reihe nachweisen. Weiterhin konnten G. ASTALDI und Mitarbeiter (1952) zeigen, daß im Glykogengehalt der neutrophilen Granulozyten des Knochenmarks und des peripheren Blutes kein merklicher Unterschied besteht.

Diese für den gesunden Organismus charakteristischen zytochemischen Zustandsbilder erfahren aufgrund der Polyvalenz der weißen Blutzellen bei den unterschiedlichsten auf den Organismus einwirkenden Noxen typische Änderungen als Ausdruck gesteigerter Stoffwechselaktivität. So konnte R. FRIEDE (1953) den hohen Glykogengehalt der Granulozyten in der entzündlichen Appendix nachweisen. Auch Gliazellen können in der Nähe experimentell gesetzter Hirnverletzungen eine Zunahme ihres Glykogengehaltes erfahren. R. WULFF (1962) beobachtete eine Zunahme des Glykogengehaltes bei den Entzündungsreaktionen sowohl an den Neutrophilen als auch in Makrophagen. Ebenfalls fand M. BAGDAZARIAN (1957) im Kaninchenblut während einer Entzündungsleukozytose eine Steigerung der glykogenreichen Leukozyten. Dieses Glykogen wird dann im Laufe der intensiven Tätigkeit verbraucht. An den ausgewanderten Leukozyten eines Hautfensters wurde der Glykogengehalt mit Hilfe der Perjodsäure-Schiff-Technik untersucht. Es ergab sich eine intensive Anfärbbarkeit der Neutrophilen und der Makrophagen, die in den Neutrophilen mit dem Fortschreiten der Entzündungsreaktion zunahm (T. TAKEUCHI, 1958).

Es ist demnach naheliegend, den Glykogengehalt der Granulozyten als Maß ihrer Stoffwechsellaage anzusehen.

Während nun aber, wie aus dem oben angeführten hervorgeht, der Glykogengehalt der weißen Blutzellen in seiner Physiologie und Pathophysiologie vielfach untersucht worden ist, ist über den Einfluß moderner Medikamente auf

den Glykogengehalt der Granulozyten wenig bekannt, obwohl die ausgeprägte pharmakologische Beeinträchtigung gerade des granulopoetischen Systems durch die neu gefundenen Pharmaka eine klinisch seit langem bekannte Tatsache ist.

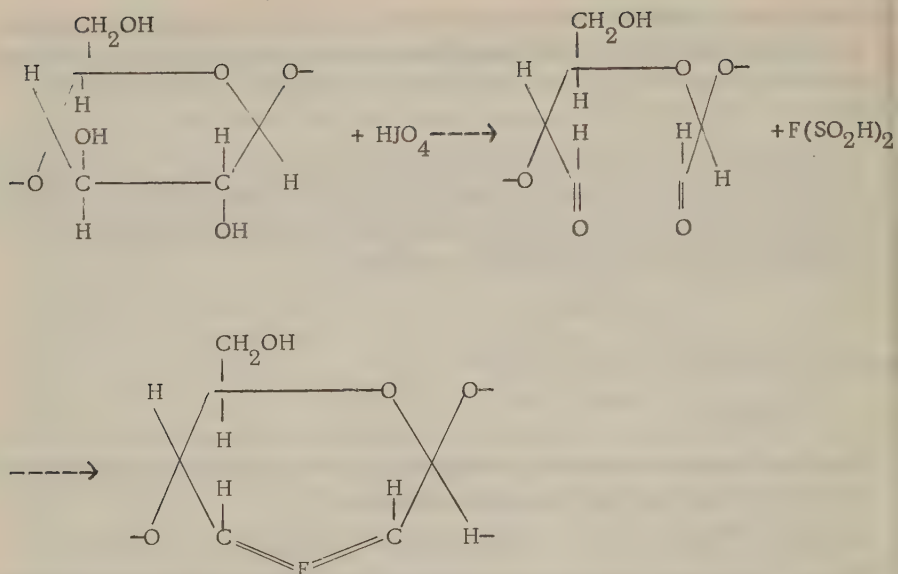
Demzufolge soll es das Ziel der vorliegenden Arbeit sein, mit histochemischen Methoden die Relation zwischen dem Glykogengehalt der neutrophilen Granulozyten als Ausdruck ihrer Stoffwechselintensität unter der Einwirkung von Antibiotika, Zytostatika und Pyretika zu untersuchen.

MATERIAL UND METHODE

1. Färbung

Der histochemische Nachweis von Glykogen beruht auf der PAS-Reaktion. Deshalb sei hier kurz auf ihre Grundlage eingegangen.

Perjodsäure (HJO_4) ist ein Oxydationsmittel, das erstmals von MALPRADE (1928, 1934) zum Nachweis von Glykol benutzt wurde. Seine Verwendung in der Histologie geht auf J. F. A. McMANUS (1946) zurück, der sie zur Darstellung von Mucin benutzte. Angeregt durch diese Arbeit entwickelten R. D. LILLIE (1947 a und b) und R. D. HOTCHKISS (1948) diese Färbemethode zu einem histochemischen Nachweis verschiedener Polysaccharide in den unterschiedlichsten Geweben. Das Reaktionsprinzip stellt man sich heute in folgender Weise vor (A. G. PEARSE 1960): Perjodsäure als Oxydationsmittel zerstört C-C-Bindungen von 1-2 Glycolgruppen (CHO-CHO) und führt sie in Dialdehyde (CHO-CHO) über. Dabei hat die Perjodsäure vor anderen histochemischen Oxydationsmitteln wie KMnO_4 , CrO_4 und H_2O_2 den Vorteil, daß sie die entstandenen Dialdehyde nicht weiter oxydiert. Diese stehen deshalb für die Reaktion mit dem Schiff'schen Reagenz in vollem Umfang zur Verfügung. Anders gesagt: Die Carbonyl-Gruppen werden durch die HJO_4 zu Carboxyl-Gruppen oxydiert und diese wiederum reagieren mit dem reduzierten, farblosen Leukofuchsin des Schiff'schen Reagenzes. Das oxydierte Dialdehyd-Leukofuchsin gibt dann die charakteristische rote Tingierung. Der Reaktionsmechanismus zwischen Perjodsäure und einem Diglucoserest ist auf Seite 4 abgebildet. Es sei darauf hingewiesen, daß der rote Farbton dem Reaktionsprodukt aus Leukofuchsin und Diglukose zugesprochen werden muß und nicht etwa reoxydiertes Fuchsin darstellt.



Demnach ist bei Substanzen, die folgende histochemische Eigenschaften haben, mit einem positiven Ergebnis der Färbung zu rechnen (R. D. HOTCHKISS 1948):

1. Sie müssen CHOH-CHOH -Gruppen oder äquivalente Amino-oder Methylaminogruppen oder deren Oxydationsprodukt (CHOH-C=O) enthalten.
2. Sie müssen im Verlauf der Fixierung ortsständig bleiben.
3. Ebenso müssen ihre Oxydationsprodukte im Gewebe ortsständig bleiben.
4. Sie müssen im Gewebe in einer so hohen Konzentration vorliegen, daß bei der Reaktion eine sichtbare Menge von Farbstoff gebildet wird.

Zur Darstellung des Glykogengehaltes der Leukozyten in den Blutaussstrichen wurde die von L. FRIEDERICI (1955) modifizierte Methode nach der HOTCHKISS PAS-Färbung angewandt.

1. Fixierung der Ausstrichpräparate in Methylalkohol für 2-4 Minuten und Lufttrocknung.
2. Behandlung mit 0,5%igem Natriumperjodit für 10 Minuten.
3. 10 Minuten Abwaschen unter der Wasserleitung.
4. Eintauchen in Schiffs-Reagenz für 15 Minuten.
5. Abspülen in Aqua destillata.
6. Spülung in Natriumsulfitlösung für 5 Minuten.

7. 15 Minuten unter der Wasserleitung abwaschen.
8. Gegenfärbung mit 1%igem Methylenblau für 5 Minuten.

Die Schiffs-Reagenz setzt sich zusammen aus:

200 ccm Aqua dest., auf 50° erhitzt,

1 g Pararosanilin,

1 ml konzentrierte Salzsäure

2 g Natriumsulfit

(24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen lassen).

Nach dieser Färbung stellen sich die Neutrophilen in folgender Weise dar:

Gruppe 0: Zytoplasma schwachblau, Kern tiefblau.

Gruppe 1: Zytoplasma schwachrosa, Kern tiefblau.

Gruppe 2: Zytoplasma rosa, Kern tiefblau.

Gruppe 3: Zytoplasma rot, Kern tiefblau.

Gruppe 4: Zytoplasma starkrot, Kern tiefblau.

2. Versuchsdurchführung

An 20 gesunden Kaninchen beiderlei Geschlechts wurde der Glykogengehalt der Leukozyten bei Einwirkung von Supronal, Endoxan und Pyrexal unter laufender Leukozytenkontrolle geprüft.

Vor der ersten Injektion wurden an drei Tagen die Ausgangswerte ermittelt. 10 Kaninchen mit ca. 4,0 kg Körpergewicht erhielten pro Kilogramm 0,2 g, entsprechend 0,8 g bzw. 4 ml Supronallösung an jedem zweiten Tag intraperitoneal. Insgesamt erhielt jedes Tier im Versuchsablauf 10 Injektionen. Die Pyrexal-Injektion von 1 ml Pyrexal i. v. wurde beim ersten Versuchstier einige Tage nach der zehnten Supronal-Injektion, bei den Versuchstieren 2-8 unmittelbar nach der letzten Supronalgabe verabreicht, während Versuchstier 9 und 10 ohne Pyrexal weiterbeobachtet wurden.

Des weiteren wurden vor und nach den Pyrexal-Injektionen die Temperaturen der Kaninchen kontrolliert.

Zehn andere Kaninchen erhielten je eine Injektion von 5 mg Endoxan an jedem zweiten Tag. Die oben beschriebene Versuchsanordnung wurde genauso bei den Endoxan-Tieren durchgeführt.

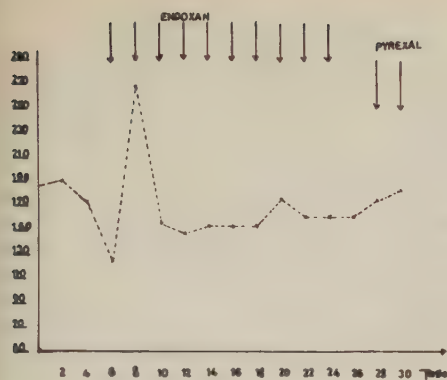
Täglich wurden zwei Blutaussstriche angefertigt, gefärbt und aus ihnen jeweils 100 neutrophile Leukozyten ausgezählt, welche nach G. ASTALDI (1952) in vier Intensitätsgrade eingeteilt wurden. Zur Bestimmung des mittleren Reak-

tionsindex (MRI) wurde die jeweilige Anzahl der Leukozyten mit ihrem Intensitätsgrad multipliziert. Die Summe der Produkte ergibt den mittleren Reaktionsindex.

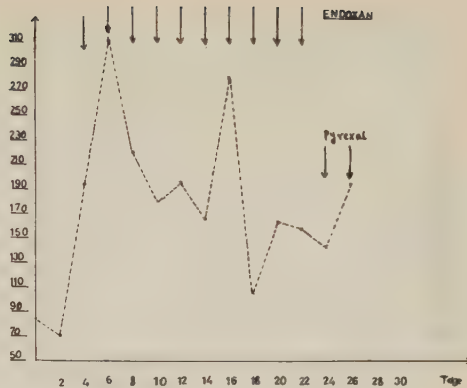
In der folgenden Tabelle finden wir als Beispiel eine Zusammenstellung der einzelnen MRI:

Tage	Gruppe	Anzahl Zellen in %	Multipli- kations- faktor	Glykogen- gehalt	Glyko- gen- index	Mittelwert
1	0	8	-	-		
	1	15	1	15		
	2	20	2	40		
	3	46	3	138	237	
	4	11	4	44		
						<u>224</u>
1	0	13	-	-		
	1	14	1	14		
	2	29	2	58		
	3	27	3	111	211	
	4	7	4	28		

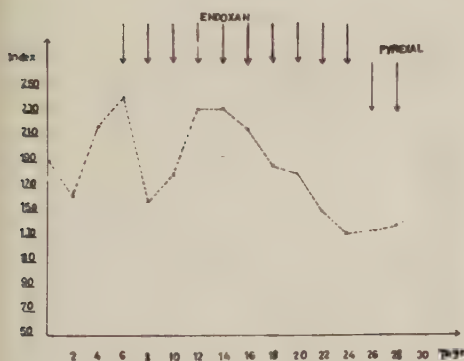
Die Reaktionsindices eines Versuches können auch in Form einer Kurve dargestellt werden (Abb. 1-20).



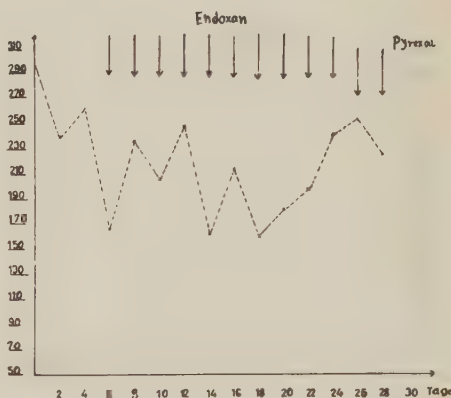
Kaninchen N.1



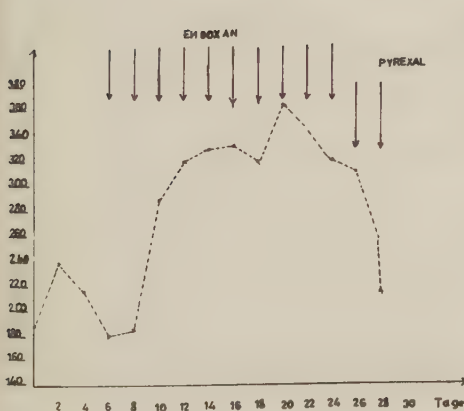
Kan. N.2



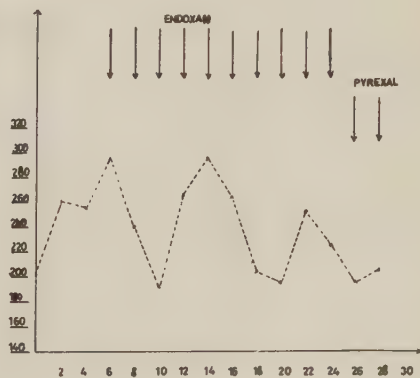
Kan. N.3



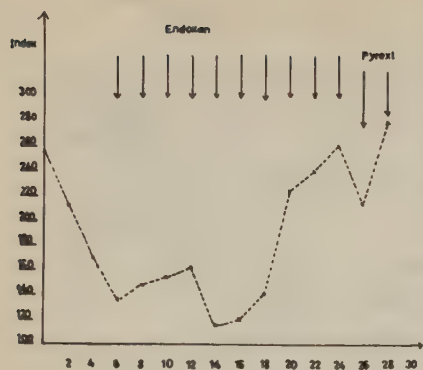
Kaninchen N. 4



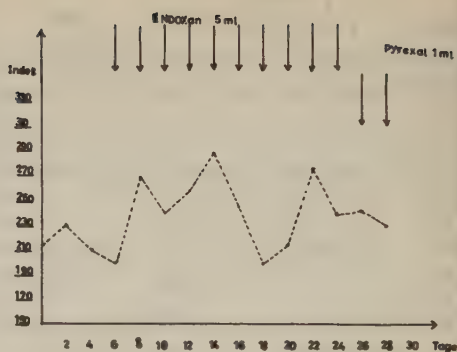
Kan. N.5



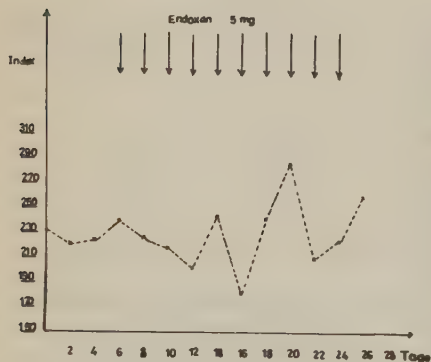
Kan. N.6



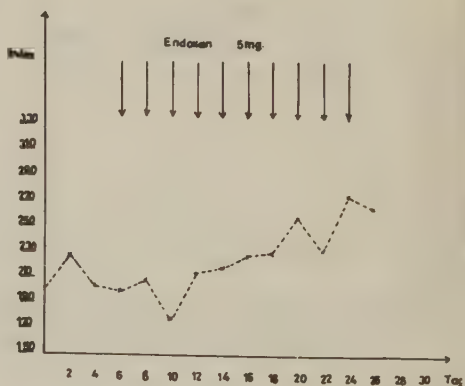
Kaninchen H. 7



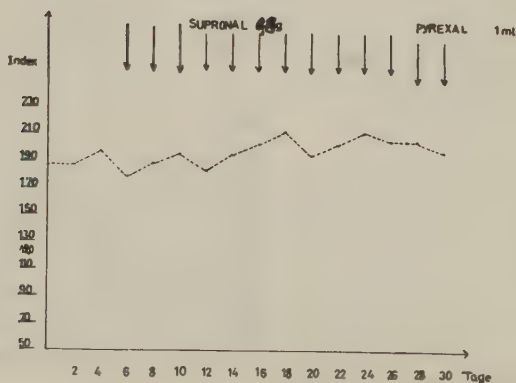
Kaninchen H. 8



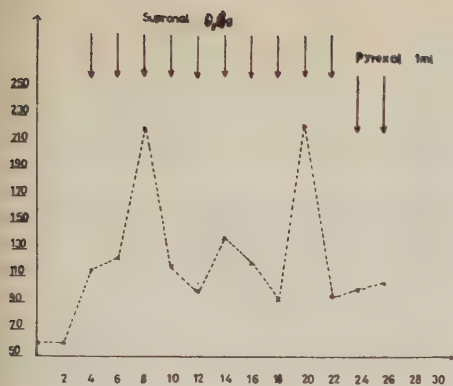
Kan. N. 9



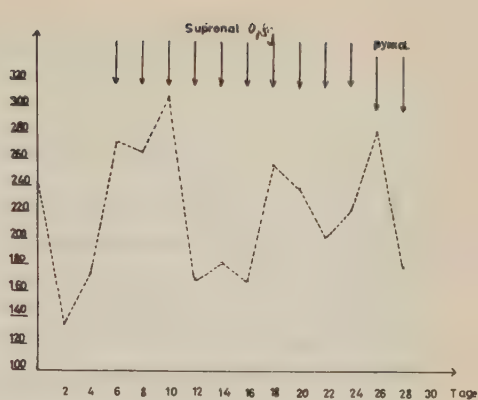
Kan. N. 10



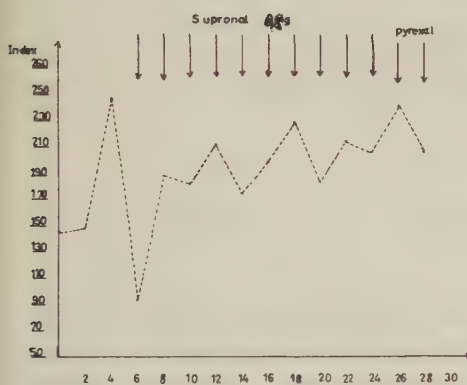
Kan. N. 11



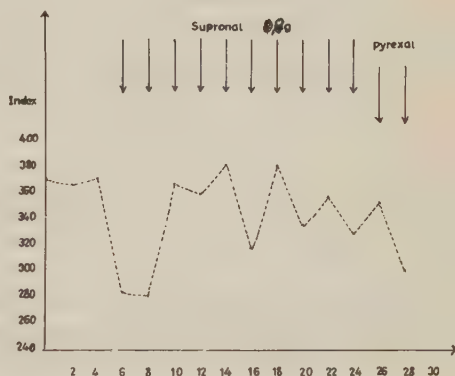
Kan. N. 2



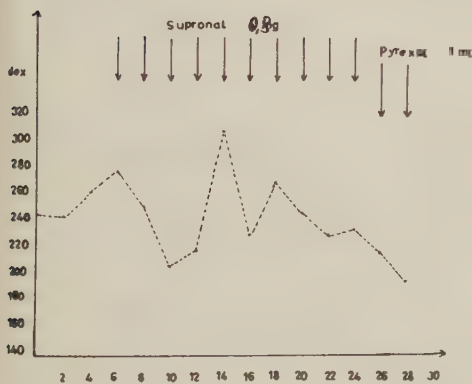
Kan. N. 3



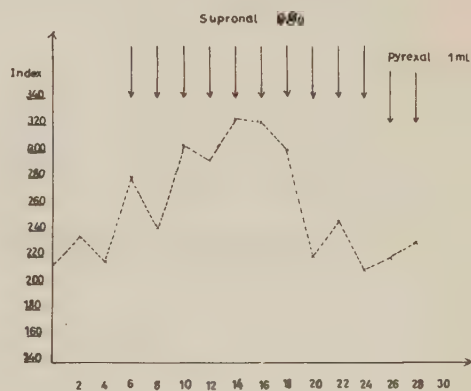
Kan. N. 4



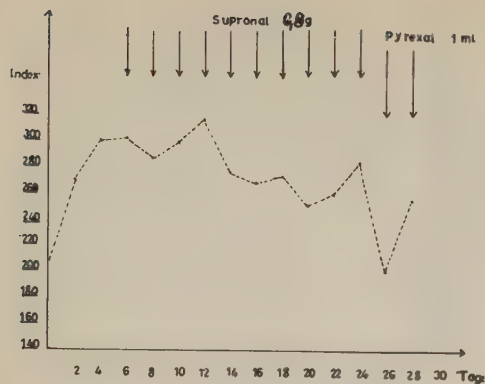
Kan. N. 5



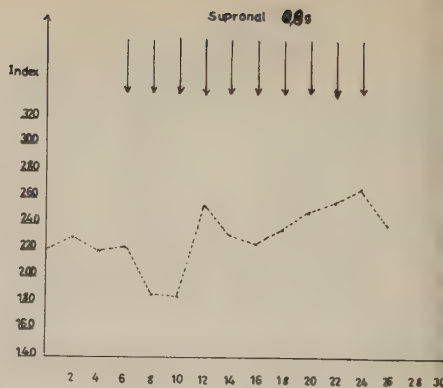
Kan. N. 6



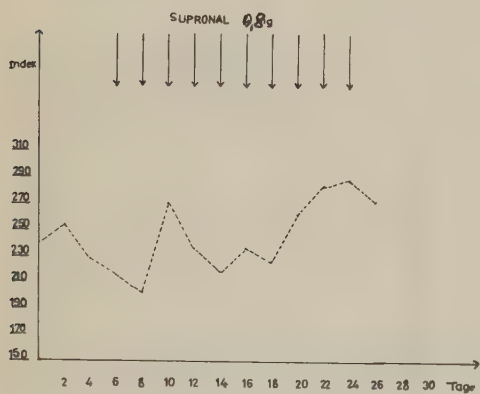
Kan. N. 7



Kan. N. 8



Kan. N. 9



Kaninchen N. 10

VERWENDETE STATISTISCHE METHODEN

Das aus einer bestimmten Versuchsreihe gewonnene Zahlenmaterial muß, damit es aussagefähig wird, mit Hilfe statistischer Methoden bearbeitet werden.

(a) Aus den Reaktionsindices der ersten 3 Tage und denen der letzten 5 Tage eines bestimmten Versuches wurde jeweils ein Mittelwert gebildet und die Differenz dieser beiden Mittelwerte für jedes Tier ermittelt. Um eine Verteilung zu beschreiben, wurden die folgenden einfachen statistischen Maßzahlen berechnet:

$$(1) \bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_i x_i \quad (\text{Mittelwert})$$

$$(2) S_{xx} = \sum_i (x_i - \bar{x})^2 = \sum_i x_i^2 - \frac{(\sum_i x_i)^2}{n} \quad (\text{Summe der Abweichungsquadrate})$$

$$(3) S_x = \sqrt{\frac{S_{xx}}{(n-1)}} \quad (\text{Standardabweichung})$$

(b) Um die Hypothese zu prüfen, daß während der Behandlung eine Veränderung eingetreten ist, wird der sogenannte t-Test in paarweisem Vergleich verwendet (S. KOLLER, 1964; S. LINDER, 1964).

Der Mittelwert der Differenzen muß in etwa Null sein, wenn keine Veränderung eingetreten ist. Ob sich der tatsächliche beobachtete Mittelwert mehr als zufällig zu erwarten von Null unterscheidet, wird durch folgende Formel geprüft:

$$(4) t = \frac{\bar{d}}{S_{\bar{d}}}$$

$$\text{Dabei ist } \bar{d} = \frac{\sum_i d_i}{n} \quad (\text{Mittelwert})$$

$$S_{dd} = \sum_i d_i^2 - \frac{(\sum_i d_i)^2}{n} \quad (\text{Summe der Abweichungsquadrate})$$

$$\text{Varianz} = S_d^2 = \frac{S_{dd}}{n-1}$$

$$\text{und } s_{\bar{d}} = \sqrt{\frac{s_{dd}}{(n-1)n}} \quad (\text{Standardfelder des Mittelwertes})$$

ERGEBNISSE

Der Einfluß der Medikamente Endoxan, Supronal und Pyrexal auf den Glykogengehalt der weißen Blutkörperchen (Granulozyten) wurde mit Hilfe des t-Testes bei paarweiser Anordnung untersucht.

a) Die Wirkung von Endoxan:

Aus den Reaktionsindices der ersten 3 Normaltage und denen der letzten 5 Tage eines Versuches unter Medikamenteinwirkung wurde jeweils ein Mittelwert gebildet und die Differenz dieser beiden Mittelwerte für alle Tiere festgestellt. Nach der Formel (4) ergab sich folgender t-Wert:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_{\bar{d}}} = 0,797 \approx 0,8$$

Dieser Wert ist kleiner als der Grenzwert auf dem 1%-Niveau ($t_{0,01} = 3,24$; $t_{0,05} = 2,26$ bei 9 Freiheitsgraden). Man kann also keine Einwirkung des Endoxan auf den Glykogengehalt aufgrund der vorliegenden Untersuchungen behaupten. Deswegen könnte trotzdem eine Wirkung bestehen, die aber bei der vorliegenden geringen Tierzahl noch nicht nachweisbar ist.

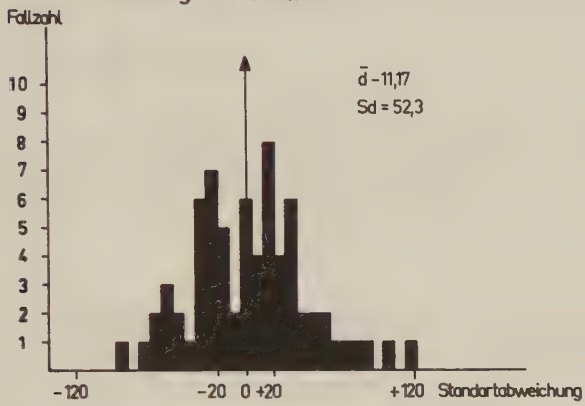
b) Wirkung von Supronal:

Die Formel (4) ergibt:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_{\bar{d}}} = 2,33$$

Dieser Wert ist bei 9 Freiheitsgraden größer als der Grenzwert bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5%. Es besteht also ein auffälliger Unterschied zwischen Glykogengehalt vor und nach der Einwirkung von Supronal.

Verteilung der Meßfehler



c) Die Wirkung von Pyrexal nach Endoxan:

Die Wirkung von Pyrexal nach Endoxan wird ebenfalls nach der Formel (4) berechnet:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_{\bar{d}}} = 0,31$$

Dieser Wert ist bei 9 Freiheitsgraden kleiner als der Grenzwert. Man kann also keine Einwirkung auf den Glykogengehalt von Pyrexal nach Endoxan behaupten.

d) Vergleich:

Der Vergleich der Mittelwerte der letzten 5 Tage unter Supronal mit den Mittelwerten der 2 Tage unter Pyrexaleinwirkung mit dem t-Test im paarweisen Vergleich nach Formel (4) ergibt folgenden Wert:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_{\bar{d}}} = 2,07 \quad 2,1$$

Dieser Wert ist bei 9 Freiheitsgraden kleiner als der Grenzwert. Die durchgeführten Vergleiche sollen nun in einer Tabelle zusammengefaßt werden:

Vergleich	n	$\bar{d}$	$s_{\bar{d}}$	t
Vorbehandlung - Endoxan	10	14,44	18,12	0,8
Vorbehandlung - Supronal	10	19,1	8,19	<u>2,33</u>
Endoxan-Pyrexal	8	- 4,575	14,725	- 0,3106
Supronal-Pyrexal	8	- 16,825	8,122	- 2,0715

$$t_{0,05} \text{ bei 9 Freiheitsgraden} = 2,26$$

Der unterstrichene Wert ist statistisch auffällig. Er ist mit Vorsicht zu beurteilen. Da insgesamt 4 Vergleiche durchgeführt wurden, könnte dieser Wert auch durch Zufall zustande gekommen sein. (5% falsche positive Aussagen muß man bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% erwarten.)

Als Durchschnittswert der Differenzen von erster und zweiter Messung erhielten wir

$$\bar{d} = - 11,17$$

Für die Standardabweichung der Differenzen zwischen erster und zweiter Messung ergab sich ein Wert von

$$S_d = 52,26$$

Der relative Bestimmungsfehler bezogen auf den durchschnittlichen Mittelwert der Doppelbestimmungen betrug damit:

$$52,26 : \left(\frac{1}{2} \cdot 220,8 + 232,0\right) = 0,23$$

d. h. 23 Prozent

Temperatur:

Vor und nach den Pyrexalinjektionen wurde die Temperatur der Kaninchen gemessen. Dabei wurde bereits nach 20 Minuten erhöhte Temperatur festgestellt, die in den folgenden Stunden weiter anstieg, wie folgende Tabelle zeigt:

Kaninchen	Temperatur (in Grad Celsius)		
	vor der Injektion	nach 20 min.	nach 60 min.
n = 8			
1	36,7	38,2	39,4
2	37,9	38,5	40,0
3	38,0	39,0	40,3
4	38,6	38,2	39,5
5	38,6	39,3	40,0
6	38,3	38,4	39,5
7	38,2	38,4	38,9
8	37,9	39,9	40,5
Mittelwert	38,25		39,7

Auf eine genaue statistische Überprüfung mit Hilfe des t-Testes im paarweisen Vergleich hin ergab sich, daß ein Temperaturanstieg nachweisbar ist.

DISKUSSION

Wenngleich die Bedeutung des Glykogens als Energieträger im Intermediärstoffwechsel durch die Untersuchungen der letzten Jahrzehnte einer Klärung wesentlich näher gebracht werden konnte, ist über seine Funktion im Stoffwechsel der weißen Blutzellen noch verhältnismäßig wenig bekannt. Zwar ist das Vorkommen dieses Polysaccharids und seine quantitative Veränderung im Rahmen pathologischer Prozesse seit langem bekannt (P. EHRlich 1893), jedoch ist die Frage, ob es sich dabei um das histochemische Substrat einer Aktivierung oder um den Ausdruck einer tiefgreifenden Zellschädigung mit Dar-niederliegen des Stoffwechsels handelt, bisher nicht mit Sicherheit ent-schieden worden. Unserer Arbeit lag die Absicht zugrunde, im Modellversuch die-sem Problem etwas näher zu kommen und eventuell Hinweise auf die Bedeutung des Glykogens in den Granulozyten zu erhalten. Dazu erscheint es zunächst notwendig, die wichtigsten histochemischen Befunde mit den Ergebnissen der quantitativen Analyse biochemischer Untersuchungen zu korrelieren. Isolierte normale menschliche Blutleukozyten haben einen überwiegend aeroben Gly-kolysestoffwechsel. Innerhalb ihres glykolytischen Systems wiederum kommt der Hexokinase als Initiatorenzym eine besondere Bedeutung zu, da man in ihr einen signifikant notwendigen Faktor für die Erhaltung eines adäquaten ADP-Spiegels in Leukozytenhomogenaten gefunden hat (W. S. BECK 1958; P. GRIG-NANI, A. COLONNA, M. MASTRODICASA e M. MARTELLI, 1963). Bei Aus-stattung mit einem normalen Enzymsystem zeigen die Leukozyten mikroche-misch einen unveränderten Glykogengehalt, selbst bei Schwankungen des Blut-zuckerspiegels (W. N. VALENTINE, J. H. FOLLETTE, H. MILLS, W. S. BECK and J. S. LAWRENCE, 1952). Einen erheblichen Einfluß auf den Fermentgehalt der Zelle hat jedoch ihr Reifegrad; so konnte nachgewiesen werden, daß in unreifen Zellen der myeloischen Reihe das gesamte Enzymsystem nicht voll leistungsfähig ist. Diesen Befunden entsprechen die von zahlreichen Unter-suchern mit Hilfe der Glykogenfärbungen nach GÖMORI, HOTCHKISS und BAUER-PEULGEN gefundenen Ergebnisse, nach denen die Zellen der granulo-poetischen Reihe einen vom negativen Myeloblasten bis zum stark positiv re-agierenden Polymorphkernigen eine Zunahme des Glykogengehaltes zeigen. Zellen der lymphatischen Reihe weisen gelegentlich große positive Körnchen auf; Megakaryozyten und Blutplättchen sind positiv (J. F. G. HAYDE, D. QUAG-LINO and R. J. PELMANS, 1960; R. P. GIBB and R. E. STOWELL, 1949; A. FER-RARA, 1952; W. J. MITTUS, L. J. BERGNA, J. B. MEDNICOFF and W. DAMESHEK, 1958; G. ASTALDI, E. BERNADELLI e E. G. RONDANELLI, 1952).

Weitere, zum Teil tiefergehende Hinweise lassen sich aus dem Vergleich pathologischer Stoffwechselreaktionen und ihrem morphologischen Substrat gewinnen. Eine Übersicht über das Enzymverteilungsmuster geben G. W. LÖHR und H. D. WALLER (1964). Weiterhin konnte W. S. BECK (1958) an Zellhomogenaten von Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie eine Verminderung in der Laktatbildung feststellen. Gleichzeitig ist die Größe der ADP-Bildung in Leukämiezellhomogenaten auf ca. 50% eingeschränkt. Für dieses Krankheitsbild scheint eine generelle Restriktion der Fermentaktivitäten charakteristisch zu sein, wobei besonders augenfällig die Erniedrigung der Hexokinaseaktivität ist (F. GRIGNANI, A. COLONNA, M. MASTRODICASA e M. MARTELLI, 1963). Der Zytochrom C-Bedarf für die maximale O₂-Aufnahme ist bei Leukämieleukozyten deutlich erhöht, während eine maximale Milchsäureproduktion nur durch wesentlich gesteigerte Zugabe von Diphosphorpyridinnukleotid erreicht werden kann (W. S. BECK and W. N. VALENTINE, 1952 a, b). Auch diese Stoffwechselveränderungen sprechen für eine Unterentwicklung und Minderfunktion des Enzymsystems in den untersuchten Leukozyten. Mikrochemisch-analytisch konnte darüber hinaus bei der chronischen Myelose eine Verminderung im Glykogengehalt der Leukozyten nachgewiesen werden. Diese Befunde konnten von H. MERKER und C. Y. HUI (1961) vollkommen bestätigt werden, die bei histochemischer Glykogendarstellung eine Verminderung dieses Polysaccharids in den Neutrophilen bei chronischen Myelosen fanden. Dagegen zeigen die gleichen Blutzellen bei der Polyzythaemia vera sowohl mikrochemisch-analytisch wie auch histochemisch eine deutliche Vermehrung ihres Glykogengehaltes (H. MERKER und C. Y. HUI, 1961; W. N. VALENTINE, J. H. FOLLETTE und J. S. LAWRENCE, 1952). Da es sich bei diesen Erkrankungen um eine allgemeine, dem benignem Tumorwachstum nahestehende, reifzellige Knochenmarkshyperplasie handelt, dürfte der erhöhte Glykogengehalt bei einer Hyperaktivität des Zellstoffwechsels in Zusammenhang stehen, zumal ein Enzymdefekt in diesen Zellen bisher nicht nachgewiesen werden konnte, der für eine degenerative Veränderung im Zellstoffwechsel spräche. Diese Ergebnisse gelten jedoch nur für die Zellen der myeloischen Reihe. Für die akuten Leukämien, die Infektions- und Stoffwechselerkrankungen, sind derartige Variationen der Befunde pathognomonisch, daß sie eine teleologische Deutung in keiner Weise zulassen. So fand H. MERKER und C. Y. HUI (1961) bei akuten Leukosen eine Divergenz zwischen Phosphatasevermehrung und Glykogenverminderung. O. BJÖRNBORG (1963) konnte im Gegensatz dazu an 43 Fällen mit akuten oder chronischen lymphatischen Leukämien färberisch einen deutlich gesteigerten Glykogengehalt feststellen; O. BJÖRNBORG geht sogar so weit, einen normalen oder niedrigen Glykogengehalt lymphatischer Leukozyten als beweisend für die Gutartigkeit einer Lymphozytose zu halten.

R. R. GIBB and R. E. STOWELL (1949) sahen mit histochemischen Methoden keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Norm, mit Ausnahme der großen Zellen bei Patienten mit infektiöser Mononukleose, die keine Anfärbbarkeit mit Glykogenfärbungen erkennen ließ.

Einheitlicher stellen sich die Befunde bei zwei anderen Krankheitsbildern dar, in deren Rahmen auch dem Leukozytenglykogen besondere Aufmerksamkeit gewidmet wurde: Der Glykogenspeicherkrankheit und dem Diabetes mellitus.

Bei der ersten Erkrankung handelt es sich um einen Enzymdefekt, von dem folgende am Glykogenabbau beteiligte Enzyme betroffen sind: Die Phosphorylase, die Glukose-6-Phosphatase und die Amylo-1, 6-Glukosidase. Im Zentrum des pathologischen Geschehens steht bekanntlich die Leber, doch scheinen auch die Leukozyten im Gegensatz zum Muskel einen korrespondierenden Enzymdefekt zu haben (F. HUINYING 1964; K. STEINITZ, H. BODUR and T. ARMAN 1963). Beim Diabetes mellitus stehen sowohl die Veränderungen des Enzymprofils der Leukozyten wie auch die ihres Gesamtstoffwechsels ganz im Rahmen der auch in anderen Geweben nachweisbaren Stoffwechselschädigung (G. MÄHR 1959, 1963; M. E. DUMM 1957, 1959; V. ESMANN 1961, 1964; P. POLOSA e C. POTO 1954; A. ENGLHARDT und K. JAHNKE 1964).

Im Vergleich zu ihrer außerordentlichen Bedeutung für die zelluläre Infektabwehr sowie für die Bildung sessiler und freier Immunkörper nehmen die Arbeiten über das Verhalten des Leukozytenglykogens bei Infektionskrankheiten, hyperergen Immunreaktionen und Verletzungen einen nur schmalen Raum ein. R. PRIEDE (1953) konnte mit Hilfe der ARZAE-FLORES'schen Versilberungsmethode in der entzündlichen Appendix einen überaus hohen Glykogengehalt der Leukozyten nachweisen. Bei experimentell gesetzten Hirnverletzungen zeigen die Gliazellen eine erhebliche Zunahme ihres Glykogengehaltes. Der Autor sieht in beiden Fällen die Glykogenanreicherung als "Aktivierung" des Zellstoffwechsels an, nicht dagegen als Zeichen einer Zellschädigung. An ausgewanderten Leukozyten eines "Hautfensters" konnte H. R. WULFF (1962) die Emigration sämtlicher für ein entzündliches Infiltrat typischen Zellen beobachten, wobei sich große jugendliche Neutrophile mit geringem Glykogengehalt bis zu intensiv gefärbten reifen Formen nachweisen ließen. Die Jugendlichen wie auch die Makrophagen zeigen mit zunehmender Reifung und Stoffwechselaktivität, die durch Messung der Phosphorylase-Aktivität bestimmt wurde, eine Zunahme des intrazellulären Glykogens. In allen Zellen nahm der Glykogengehalt wie auch die Aktivität der Phosphorylase mit dem Fortschreiten der Entzündung zu. O. BJÖRNBORG (1963) fand bei reaktiver Leukozytose des peripheren Blutes immer eine Vermehrung des Glykogengehaltes

und bestätigt damit die Befunde von R. WILLSTÄTTER und M. RHODENWALD (1931, 1937), die bei entzündlichen Prozessen eine Zunahme der Jodophilie der orthologisch nur mit der PAS-Methode tingierbaren Leukozyten fanden. Dieses Phänomen erklären die Autoren mit einer durch die Stoffwechselaktivität hervorgerufenen Freisetzung von mit Jod nachweisbarem Glykogen aus einer an Protein gebundenen Speicherform, die bereits durch die PAS-Reaktion erfaßt wird. In diesem Sinne würde auch die zunehmende Phosphorylaseaktivität (H. R. WULFF 1962) sprechen.

In Zusammenhang mit dieser für die Entzündung charakteristischen Stoffwechselaktivierung liegt es nahe, den Einfluß der aus der modernen Therapie nicht mehr wegzudenkenden Sulfonamide auf den Glykogengehalt der Neutrophilen zu untersuchen. Die pharmakologisch gesicherte, bakterio-statische Wirkung dieser Stoffgruppe beruht primär auf ihrem p-Amino-benzoesäure-Antagonismus, welcher durch Konkurrenz am Reaktionsort die für die Vermehrung bestimmter Bakterienstämme notwendige Synthese von Folsäure verhindert. Auf der Basis der so erzielten Bakterio-stase bleibt die eigentliche Infektabwehr dem Immunsystem des Organismus überlassen. In unseren Versuchen ergab sich nun schon nach der ersten Injektion von Supronal eine statistisch auffällige Vermehrung des Glykogengehaltes der Neutrophilen. Die Sulfonamide scheinen also einen Anstieg des Leukozytenglykogens zu bewirken. Diesem Effekt können folgende Mechanismen zugrunde liegen:

1. Eventuell im Organismus vorhandene Erreger werden unter der bakterio-statischen Wirkung des Supronal für die Neutrophilen besser angreifbar und führen so zu einer unspezifischen Aktivierung ihres Stoffwechsels.
2. Das Supronal wirkt selbst als Fremdkörper und führt so zu einer Aktivierung der Neutrophilen im Sinne einer unspezifischen Abwehrreaktion.
3. Das Supronal bewirkt direkt eine Aktivierung im Stoffwechsel der Leukozyten, was seinen Ausdruck in einer vermehrten Spaltung des Protein-Glykogenkomplexes findet.

Jedem dieser zur Diskussion gestellten pharmakologischen Mechanismen, deren Abklärung weiteren Untersuchungen anheimgestellt werden muß, würde der Befund entsprechen, daß zugleich mit der Vermehrung des Glykogens eine signifikante Erhöhung der Phosphataseaktivität einhergeht (R. ZENTGRAF, 1965). Aus dieser Tatsache darf jedoch für unsere Fragestellung geschlossen werden, daß eine Vermehrung des Glykogengehaltes in den Neutrophilen als histochemisches Substrat einer Stoffwechselaktivierung angesehen werden kann. Bei

der Untersuchung immunologischer Reaktionen konnte W. WAWISKA-ZENKTELER (1963) eine enge Relation zwischen Glykogengehalt der Leukozyten und der Stärke eines anaphylaktischen Schocks zeigen, wobei die Tierarten mit stärkerer Neigung zum Schock einen größeren Glykogengehalt in den Leukozyten aufweisen. Zur Deutung dieser primär irrelevanten Korrelation ist es angebracht, den Mechanismus des anaphylaktischen Schocks näher zu diskutieren:

Die Anaphylaxie gehört immunologisch zu den allergisch-hyperergen Reaktionsformen vom Soforttyp. Nach einer sensibilisierenden Antigenkonfrontation werden reaktiv Antikörper gebildet. Einige spezifische Antikörper scheinen in bestimmten Geweben angereichert zu werden, in den speziesspezifischen Schockorganen, und können sich in irgendeiner Weise an den Gewebszellen festsetzen. Die sessilen Antikörper bestimmter Schockorgane sind also entscheidend für die klinische Symptomatologie des anaphylaktischen Schockes. Die große Antigenmenge, die bei der auslösenden Dosis erneut zugeführt wird, verbindet sich plötzlich mit den Antikörpern. Diese Antigen-Antikörper-Reaktion führt zur Schädigung der Gewebszellen mit anschließender Histaminfreisetzung. Das Histamin ruft wiederum die meisten Symptome des anaphylaktischen Schocks hervor.

Für die Bildung der Antikörper scheinen die Zellen des retikuloendothelialen Systems verantwortlich zu sein. Darüber hinaus haben neuere Untersuchungen die Bedeutung der Lymphozyten und Plasmazellen für die Antikörpersynthese hervorgehoben (E. JAWETZ, J. L. MELNICK and E. A. ADELBERG, 1963). Die Bildung von Antikörpern in diesen Zellen kann pharmakologisch durch Verabreichung von Cortikosteroiden gehemmt werden. Dem entspricht bei in vitro-Versuchen, daß der Zusatz von Desoxycorticosteron oder Cortison die Glykogensynthese in nicht dialysierten Fermentpräparaten aus Pferdeleukozyten unabhängig von der Anwesenheit und der molaren Konzentration von Adenosin-5-phosphat erheblich einschränkt (M. RODEWALD und W. DIESCHEL, 1955). Unter diesem Aspekt möchten wir das von W. WAWISZA-ZENKTELER beschriebene Phänomen einer positiven Relation zwischen Glykogengehalt der Leukozyten und Anaphylaxieneignung ebenfalls im Sinne einer Stoffwechselaktivierung der Leukozyten deuten. Außerdem erscheint es einleuchtend, daß die Bereitschaft zu hyperergen Reaktionen besonders bei Organismen mit einem hochaktiven Immunsystem verstärkt zu finden ist. Unterstützt wird diese Auffassung durch den Befund einer Glykogensynthesehemmung bei pharmakodynamischer Hemmung der Anaphylaxie. Der anaphylaktische Schock bedeutet jedoch die Extremform einer Abwehrreaktion des Organismus, die wegen ihrer

augenfälligen Symptomatik relativ gut untersucht ist; für diskretere Formen ist die Erhöhung der Körpertemperatur und eine vermehrte Ausschwämmung von Leukozyten charakteristisch. Hierbei zeigen die Leukozyten ebenfalls einen gegenüber der Norm erhöhten Glykogenehalt.

R. ZENTGRAF (1965) konnte nach Pyrexalinketionen eine Erhöhung der alkalischen Phosphatase nachweisen. Wir möchten uns in der Diskussion dieser Erscheinung der Ansicht von M. BAGDAZARIAN (1957) anschließen, der nach Injektion des "Leukozytosis-promoting-faktor-Menkin" eine Ausschwemmung glykogenreicher Leukozyten sah, die ihr Glykogen im Laufe einer intensiven Abwehrtätigkeit verbrauchen und nach Abklingen der Noxe nicht mehr resynthetisieren.

Im Rahmen der modernen Therapie der Leukosen nehmen die Cytostatika einen breiten Raum ein. Die Leukozyten bei chronischen myeloischen Leukämien zeigen im Verlauf einer Behandlung mit N-Lost in vitro einen Anstieg der aeroben Glykolyse und eine Normalisierung der anaeroben; morphologisch geht hiermit eine Normalisierung des Differentialblutbildes einher (E. KEIBL, K. H. SPITZY und L. STORCK, 1952).

Wir selbst konnten nach Gaben von Endoxan einen Einfluß auf den Glykogenehalt der Neutrophilen nicht nachweisen. Aus diesem Grunde möchten wir die bekannte depressive Wirkung dieses Zytostatikums auf die Leukopoese in einer Hemmung des myeloblastischen Retikulums sehen, während die Ausreifung der Granulozyten nicht wesentlich gestört zu sein scheint, soweit es aus dem morphologischen Bild und der histochemischen Reaktion zu ersehen ist.

Bei einer Giftwirkung der zytotoxischen Substanzen auf das Enzymsystem dieser Zellen müßte dagegen ein Einfluß auf die Glykogensynthese und damit auf die HOTCHKISS-Reaktion zeigen.

Sollte dennoch, was weiteren Untersuchungen überlassen bleiben muß, der zytostatische Effekt auch auf reiferen Stufen der myeloischen Reihe nachweisbar sein, so gehen diese degenerativen Veränderungen im Zellstoffwechsel zumindest nicht mit einer Anhäufung von Glykogen einher.

Aufgrund der in der Literatur wiedergegebenen Befunde und der eigenen im Modellversuch erarbeiteten Ergebnisse möchten wir die Erhöhung des mit der HOTCHKISS-Reaktion nachweisbaren Leukozytenglykogens in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle als Ausdruck einer gesteigerten Stoffwechselaktivität im Zusammenhang mit immunologischen Abwehrreaktionen des Organismus sehen.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird die Änderung des Glykogengehaltes der neutrophilen Granulozyten im Kaninchenblut, der anhand der Literatur als Ausdruck ihrer Stoffwechselaktivität angesehen werden muß, unter der Wirkung von Supronal, Endoxan und Pyrexal untersucht. Die Änderung wurde nach der von FRIEDERICI modifizierten HOTCHKISS-Färbung semiquantitativ anhand der von ASTALDI angegebenen Intensitätsgrade bestimmt. Die Beziehungen wurden statistisch auf Signifikanz geprüft. Es konnten folgende Ergebnisse gewonnen werden:

1. Supronal hat eine auffällige Steigerung des Granulozytenglykogens zur Folge.
2. Endoxan läßt keinen Einfluß auf den Glykogengehalt der Granulozyten erkennen.
3. Pyrexal zeigt ebenfalls keinen nachweisbaren Einfluß auf das Granulozytenglykogen.

Aufgrund der Pharmakodynamik wird der Zusammenhang zwischen Gabe von Supronal und Anstieg Granulozytenglykogens als Ausdruck einer Stoffwechselaktivierung der Granulozyten gewertet.

LITERATURVERZEICHNIS

- ASCHOFF, L.: Ehrlichs Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die künstlichen Immunisierungsprozesse.
Jena (1902)
- ASTALDI, G., BERNADELLI e E., RONDANELLI, E.G.: Riserche sul contenuto in glicogeno delle cellule del sangue e del midollo osseo.
Haematologica 36: 749-771 (1952)
- BAGDAZARIN, M.: Changes in blood glycogen content in inflammatory leucocytosis.
polzki Tygodnik lek. 1957: 23-27 (1957)
- BECK, W. S.: The control of leucocyte glycolysis.
J. Biol. chem. 232: 251-270 (1958)
- BECK, W. S. and VALENTINE, W. N.: The aerobic carbohydrate metabolism of leucocytes in health and leucaemia: I. Glycolysis and respiration.
Cancer Res. 12: 818-822 (1952)
- BJÖRNBERG, O.: Cytochemical studies of glycogen content of lymphocytes in lymphatic leucaemia and reactive lymphocytosis.
Acta med. scand. 173: 452-453 (1963)
- BECK, W. S. and VALENTINE, W. N.: The aerobic carbohydrate metabolism of leucocytes in health and leucaemia: II. The effect of various substrates and coenzymes on glycolysis and respiration.
Cancer Res. 12: 823-828 (1952 b)
- COHNHEIM in: ASCHOFF, L.: Ehrlich's Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die künstlichen Immunisierungsprozesse.
Jena (1902)
- DUMM, M. E.: Glucose utilisation and lactate produktion by leucocytes of patientes with diabetes mellitus.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 95: 571-574 (1957)
- DUMM, M. E.: Effect of tolbutamide on glucose uptake by leucocytes of men with diabetes mellitus.
J. Applied. Physiol. 14: 1023-1024 (1959)
- EHRlich, P.: Über das Vorkommen von Glykogen im diabetischen und im normalen Organismus.
Zschr. Klin. Med. 6: 33-54 (1883)
- EHRlich, P. und LAZARUS, A.: Die Anämie; in NOTHNAGELS Spezielle Pathologie und Therapie, Vol. 8.
Wien (1898)

- ENGLHARDT, A. und JAHNKE, K.: Untersuchungen über Stoffwechselvorgänge in weißen Blutzellen:
II. Zur Frage der Enzymproduktion bei Stoffwechselveränderung: Das Enzymmuster bei Diabetes mellitus, unter verschiedenen Ernährungsbedingungen und unter dem Einfluß hormonaler Faktoren.
Klin. Wschr. 42: 1147-1152 (1964)
- ESMANN, V.: Effect of cell concentrations on the metabolism of normal and diabetic leucocytes in vitro.
Metabolism 13: 354-360 (1964)
- FERRARA, A.: La localizzazione del glicogeno nel granulocita neutrofilo.
Boll. Soc. ital. Bio. sper. 28: 258-259 (1952)
- FRIEDE, R.: Über eine mögliche trophische Funktion der Leukozyten.
Zbl. Path. 90: 94-98 (1953)
- FRIEDERICI, L.: Histochemische Methoden in der Haematologie.
Klin. Wschr. 33: 1020-1026 (1955)
- GIBB, R. P. and STOWELL, R. E.: Glycogen in human blood cells.
Blood 4: 569-579 (1949)
- GRIGNANI, F., COLONNA, A., MASTRODICASA, M. e MARTELLI, M.:
La glicolisi nei leucociti normali e leucemici.
Haematologica 48: 509-538 (1963)
- HAYOE, F. G. J., QUAGLINO, D. and FELMANS, R. J.: Consecutive use of Romanowsky and periodic-acid-Schiff techniques in the study of blood and bone-marrow cells.
Brit. J. Haemat. 6: 23-25 (1960)
- HECKNER, F.: Cytochemische Darstellung der Polysaccharide in den Zellen des Blutes und der blutbildenden Gewebe.
Acta haemat. 16: 1-10 (1956)
- HOTCHKISS, R. D.: A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations.
Arch. Biochem. 16: 131-141 (1948)
- HUINYING, F.: Amylo-1,6-glucosidase activity in normal leucocytes and in leucocytes of patients with glycogen storage disease.
Clin. chim. acta 9: 269-272 (1964)
- JAWETZ, E., MELNICK, J. W. and ADELBERG, E. A.: Medizinische Mikrobiologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg (1963)
- KEIBL, E., SPITZY, K. H. and STORCK, L.: Zum Problem des Leukocytenstoffwechsels. III. Mitteilung: Einfluß von N-Lost und Urethan auf den Stoffwechsel myeloisch-leukämischer Zellen.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 214: 531-539 (1952)

- KOLLER, S.: Statistische Auswertungsmethoden, in: Rauen "Biochemisches Taschenbuch" II. 2 A.
Berlin-Göttingen-Heidelberg (1964)
- LILLIE, R. D.: Studies on the preservation and histologic demonstration of glycogen.
Bull. Internat. Ass. Med. Mus. 27: 23-61 (1947 a)
- LILLIE, R. D.: Reticulum staining with Schiff reagent after oxidation by acidified sodium periodate.
J. Lab. clin. Med. 32: 910-912 (1947 b)
- LINDER, A.: Statistische Methoden.
Basel (1964)
- LÖHR, G. W. und WALLER, H. D.: Enzymverteilungsmuster und Energiestoffwechsel normaler und leukämischer weißer Blutzellen des Menschen.
Dtsch. med. Wschr. 89: 171-180 (1964)
- MÄHR, G.: Glykogengehalt und Kohlenhydratstoffwechsel der Leukozyten beim Diabetes mellitus.
Wien. Zschr. inn. Med. 40: 330-334 (1959)
- MALAPRADE, L.: C. R. Acad. Sci., Paris 186: 625 (1928)
zit. n.: PEARSE, A. G.: Histochemistry, Theoretical and Applied.
Boston (1960)
- MALAPRADE, L.: Bull. Soc. chin. Fr., 1: 833 (1934)
zit. n.: PEARSE, A. G.: Histochemistry. Theoretical and Applied.
Boston (1960)
- McMANUS, J. F. A.: Histological demonstration of mucin after periodic acid.
Nature 158: 202 (1946)
- MERKER, H. und HUI, G. Y.: Alkalische Phosphatase und Glykogengehalt der reifen Neutrophilen im Verlauf von idiopathischen myeloproliferativen Erkrankungen.
Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 66: 1050-1056 (1961)
- METSCHNIKOFF in: ASCHOFF, L.: Ehrlich's Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die künstlichen Immunisierungsprozesse.
Jena (1902)
- MITTUS, W. J., BERGNA, W. J., MEDNICOFF, J. B. and DAMESHEK, W.: Cytochemical of glycogen content of lymphocytes in lymphatic proliferation.
Blood 13: 748-756 (1958)
- PEARSE, A. G.: Histochemistry. Theoretical and Applied.
Boston (1960)

- POLOSA, P. e POTO, C.: Studio cytochimico del glicogene leucocitario nel diabete mellitus.
Progr. med. 10: 69-72 (1954)
- ROHDEWALD, M. und DIESCHEL, W.: Über die Beeinflussung von Leukocyten und Kartoffelphosphorylase durch Desoxycorticosteron und Cortison. II. Mitteilung: Über Sexualhormone, Steroide und Sterine.
Zschr. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforschung 7: 241-252 (1955)
- STEINITZ, K., BODUR, H. and ARMAN, T.: Amylo-1,6-glucosidase activity in leucocytes from patients with glycogen storage disease.
Clin. chim. Acta 8: 807-809 (1963)
- STORTI, E., PERUGINI, S. e SOLDATI, M.: Quadro citotopochimico dei Polisaccharidi nelle cellule del sangue e degli organi emopoietici dell' uomo normale.
Medicina 3: 145-178 (1953)
- TAKEUCHI, T.: Histochemical demonstration of branching enzyme (amylo-1,4-1,6-transglucosidase) in animal tissues.
J. Histochem. cytochem. 6: 208-209 (1958)
- VALENTINE, W. N., FOLLETTE, J. H., MILLS, H., BECK, W. S. and LAWRENCE, J. S.: Biochemical studies in chronic myelocytic leukaemia, polycythaemia vera and other idiopathic myeloproliferative disorders.
Blood 7: 959-977 (1952)
- WAWISZKA-ZENKTELER, W.: A comparative study of the glycogen content of leucocytes in human beings and laboratory animals.
Arch. Immunol. Ther. expr. 11: 219-225 (1963)
- WILLSTÄTTER, R. und RHODEWALD, M.: Über die Amylasen der Leukozyten.
Zschr. physiol. Chem. 203: 189-213 (1931)
- WILLSTÄTTER, R. und RHODEWALD, M.: Über Aufbau und Abbau des Glykogens durch Leukocyten.
Ztschr. physiol. Chem. 247: 115-129 (1937)
- WULFF, H. R.: Histochemical Studies of Leukocytes from an Inflammatory Exudate. Glycogen and Phosphorylase.
Acta haemat. 28: 86-94 (1962)
- ZENTGRAF, R.: Über die alkalische Phosphatase in den Leukocyten des Kaninchenblutes.
Med. Dissertation, Mainz (1965)

Für die Überlassung des Themas danke ich herzlichst
Herrn Prof. Dr. Friederici.

Weiterhin bin ich Herrn Prof. Dr. Koller sowie seinem Assistenten, Herrn Dr. Ueberla, für die freundliche Unterstützung bei der Auswertung des statistischen Materials dankbar.

LEBENS LAUF

Am 30.4.1929 wurde ich, Nuschafarin Mostofisadeh, in Maschad/Iran geboren. 1936 trat ich in die Nassr-Volksschule in Teheran ein.

Nach 6-jährigem Schulbesuch verheirateten mich meine Eltern. Von 1954-1957 besuchte ich die Erwachsenen-Hochschule in Teheran, an der ich 1957 mein Abitur ablegte. Ein Jahr später kam ich nach Deutschland, um hier das Medizinstudium zu beginnen. Zunächst jedoch eignete ich mir durch Selbststudium und durch Aufenthalt in verschiedenen deutschen Familien die Kenntnisse der deutschen Sprache an.

Im Wintersemester 1958/59 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz für das Fach Medizin, legte 1960 die naturwissenschaftliche und 1961 die ärztliche Vorprüfung an dieser Universität ab und bestand im Jahre 1966 dort mein medizinisches Staatsexamen. Seit dieser Zeit war ich als Medizinalpraktikantin im Kreiskrankenhaus Alzey, in der Landesnervenklinik Alzey und am Städt. Krankenhaus Rüsselsheim tätig.

